

استفاده از پلاسمای غنی از پلاکت در بازسازی دیسک بین مهره‌ای: مروری بر مطالعات پیش بالینی و آزمایشات بالینی

محسن شیخ حسن: کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، جهاد دانشگاهی استان قم، قم، ایران. mohsen_sheikhhasan@yahoo.com
سعید محمدی: استادیار، دکترای تخصصی هماتولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی - انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران، بیمارستان شریعتی، تهران، ایران. saeedm_58@yahoo.com
محسن نیکبخت: استادیار، دکترای تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات هماتولوژی - انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران، بیمارستان شریعتی، تهران، ایران. mohsnik2003@yahoo.com
***مهدیه غیاثی:** گروه فارمکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، و شرکت آوای مهدسلول ایرانیان، مرکز توسعه فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران (*نویسنده مسئول). mahdieh.ghiasi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۳۰

چکیده

دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای (Intervertebral disc degeneration) یک بیماری متداول و شایع است که معمولاً از دهه سوم زندگی افراد شروع می‌شود و یکی از دلایل موثر در مشکلات اجتماعی و اقتصادی به حساب می‌آید. نتایج حاصل از چندین مطالعه نشان داده است که پلاسمای غنی شده از پلاکت (Platelet-rich plasma)، قابلیت تحریک رشد و تکثیر سلولی و بازسازی ماتریکس خارج سلولی را دارد. با این حال نتایج مطالعات هنوز قدری محدود و ناکافی بوده و مطالعات بیشتری جهت روشن شدن نقش پلاسمای غنی شده از پلاکت (PRP) در پیشگیری و درمان بیماری دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای (IDD) مورد نیاز می‌باشد. هدف از این مطالعه مروری، خلاصه سازی و نقد مطالعات پیش بالینی و شواهد بالینی موجود در استفاده از PRP و نتایج آن‌ها در درمان بیماری IDD می‌باشد. در این مطالعه از پایگاه‌های اطلاعات مقالات علمی جهت جستجو برای یافتن مقالات مورد نظر استفاده شد. در پایان فرآیند بررسی، مقالات مرتبط با موضوعات جستجو شده مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. همچنین، چندین مطالعه بالینی و یک مطالعه موردی بالینی نیز در این مقاله مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نتایج بالینی بدست آمده در این تحقیقات تاثیر مثبتی را نشان دادند. به نظر می‌رسد با آن که نتایج تحقیقات تاثیر مثبتی را در زمینه استفاده از PRP جهت درمان دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای نشان داده است اما با این حال هنوز نمی‌توان مدرک قطعی را در مورد استفاده از PRP در بازسازی دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای متصور شد و می‌بایست مطالعات بیشتری در آینده در این زمینه صورت پذیرد.

کلیدواژه‌ها: دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای، پلاسمای غنی شده از پلاکت، بازسازی دیسک بین مهره‌ای

مقدمه

(AF) یا پوسته می‌گویند. این قسمت در واقع از حلقه‌های دایره‌ای متعددی از بافت غضروفی فیبری ساخته شده است. در حلقه فیبری دور دیسک، رشته‌های هر حلقه به صورت شعاعی حلقه دیگر را قطع می‌کند و رشته‌های شعاعی دیگر این حلقه‌ها را به هم می‌چسباند. بخش هسته دیسک متشکل از ۸۵٪ آب و پروتئوگلیکان می‌باشد و بخش پوسته آن از ماتریکس خارج سلولی همراه با فیبرهای کلاژن نوع یک، کلاژن نوع دو و کندروسیت تشکیل شده است (۲). نقش مکانیکی دیسک به شدت به ترکیب ساختاری آن وابسته است. بخش هسته قابلیت تحمل فشارهای با ماهیت درونی را داراست در حالی که بخش پوسته

دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای یکی از مهم‌ترین علل کمردرد محسوب می‌شود (۱). برخلاف بافت استخوان، دیسک بین مهره‌ای یک اندام بدون رگ و فاقد پتانسیل ذاتی خود ترمیمی می‌باشد و در نتیجه هنگامی که آسیب ببیند فاقد هرگونه توانایی ترمیم و بازسازی است (۴-۲). دیسک بین مهره‌ای در افراد بالغ از دو قسمت تشکیل شده است. یک هسته مرکزی دارد که به آن هسته دیسک یا Nucleus Pulposus (NP) می‌گویند. این قسمت، ساختار نرم و ژله مانند دارد. قسمت دوم حلقه ایست که دور هسته دیسک را احاطه کرده و در زبان لاتین به آن Annulus Fibrosus

GDF-5 را بر روی دیسک بین مهره‌ای تخریب شده بررسی نمودند و نشان دادند که این فاکتور باعث افزایش تولید ماتریکس خارج سلولی دیسک در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (۲۲). اخیراً Tolonen و همکاران فرضیه‌ای را مطرح ساختند که طبق آن فاکتورهای رشد شامل TGF-1، 2، TGF- β 1، FGF (bFGF) و فاکتور رشد مشتق از پلاکت، چرخه مولکولی را در بافت دیسک بین مهره‌ای فعال کرده و نقش مهمی را نیز در بازسازی سلولی از مرحله دژنراسیون دیسک تا مرحله فتق آن بازی می‌کند (۲۳). با اینکه تزریق یک فاکتور رشد ممکن است باعث تأثیر اندک بر روی بهبودی بیماری‌ها گردد اما به نظر می‌رسد که هیچ تک فاکتور رشدی به اندازه کافی قابلیت معکوس زایی روند در حال پیشرفت IDD را ندارد. به همین دلیل محلول‌های زیستی همچون پلاسمای غنی از پلاکت (تصویر ۱) که دارای چندین فاکتور رشد مختلف است در درمان بیماری‌ها محبوبیت زیادی را کسب نموده است. PRP، بخشی از پلاسمای خون است که محتوای سطح بالایی از پلاکت می‌باشد و از فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشد اپیتلیالی-عروقی (VEGF)، فاکتور رشد انتقالی (TGF- β 1-2-3) و فاکتور رشد شبه انسولینی یا IGF تشکیل شده است (۲۴-۲۶). با توجه به اینکه پلاکت‌های موجود در PRP حاوی بیش از ۱۱۰۰ پروتئین هستند و برخی از این پروتئین‌ها شامل آنزیم‌ها، مهارکننده‌های آنزیمی، فاکتورهای رشد، پیام‌رسان‌های سیستم ایمنی و دیگر ترکیبات زیست فعال می‌باشند، این ماده زیستی (PRP) می‌تواند نقش مهمی را در ترمیم و بهبود بافت‌ها ایفا نماید (۲۷).

همچنین در بسیاری از بیماری‌ها از PRP استفاده شده (۲۹-۲۶) و نتایج کارردهای بالینی آن در حال حاضر موجود و در دسترس می‌باشد. به طوری که نتایج حاصل از مطالعات نشان داده است که PRP درمانی، پتانسیل معکوس سازی روند تخریب دیسک بین مهره‌ای را داشته و کمردرد حاصل از این تخریب را کاهش می‌دهد (۳۰). PRP امکان کاهش یا معکوس سازی

دیسک می‌تواند در مقابل تنش‌های کششی مقاومت کند (۵).

دژنراسیون دیسک معمولاً از تخریب پروتئوگلیکان‌های موجود در بخش هسته شروع می‌شود (۶ و ۷). همچنین بسیاری از واکنش‌های شیمیایی همانند افزایش تولید سیتوکاین‌های التهابی و آنزیم‌های کاتابولیک در فرآیند دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای دخیل هستند (۸-۱۱). درمان‌های که امروزه برای بهبود IDD استفاده می‌شود طیف وسیعی از روش‌های درمانی، از درمان‌های حفاظتی همچون استراحت در رختخواب، داروهای ضدالتهاب، داروهای ضد درد و درمان‌های فیزیکی گرفته تا استراتژی‌های تهاجمی همچون تزریق اپیدورال، روش‌های سوزاندن و یا درمان مبتنی بر جراحی معمول را شامل می‌شوند (۱۲ و ۱۳).

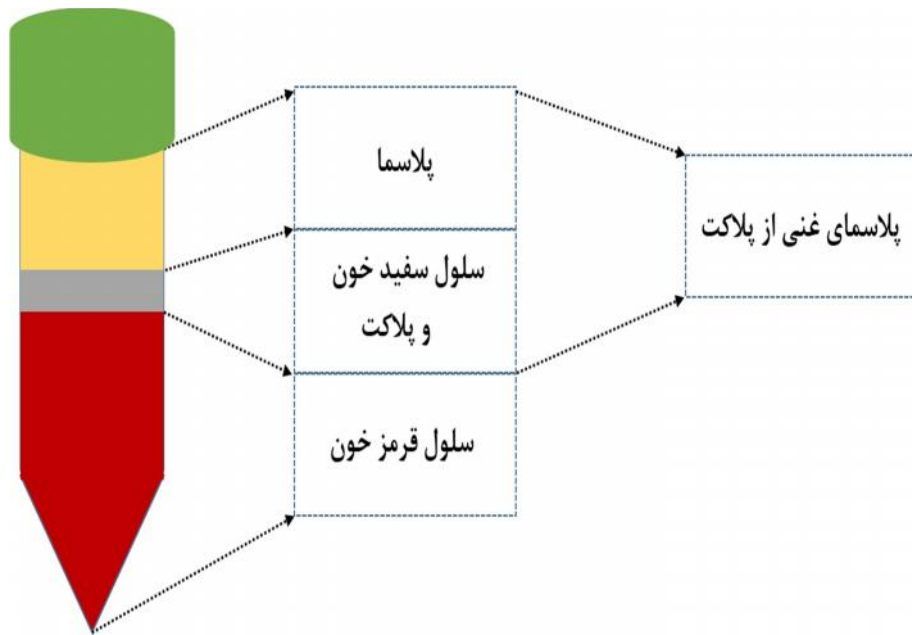
علاوه بر این روش‌ها می‌توان از فناوری‌های نوین جهت بازسازی IDD نیز کمک گرفت، البته به شرطی که یک درمان پیش‌گیرانه همچون تغذیه درمانی را نیز در موازات با آن اجرا نمود (۱۴). همچنین می‌توان از روش‌های نوین و قدرتمندی همچون طب ترمیمی جهت درمان این بیماری استفاده نمود. در طب ترمیمی چندین روش بیولوژی از جمله تزریق مواد زیستی (همچون فاکتورهای رشد)، روش مهندسی زیستی، سلول درمانی و ژن درمانی در سطح پیش‌بالینی و یا بالینی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (۱۵-۱۸). یکی از پایه‌های اساسی روش طب ترمیمی، فاکتورهای رشد هستند. ایجاد تعادل همئوستازی در دیسک بین مهره‌ای یک مسیر پیچیده است که عوامل رشد نقش مهمی را در آن بازی می‌کنند. برخی از این عوامل در آبشارهای فرآیند IDD درگیر هستند (۱۹). فاکتورهای رشد TGF- β 1 و TGF- β 3، فاکتورهای رشدی هستند که تأثیر آن‌ها بر روی دیسک بین مهره‌ای کاملاً مشخص شده است (۲۰ و ۲۱). با این حال اثر چندین فاکتور رشد دیگر همچون فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF)، پروتئین استئوژنیک ۱ (OP-1)، فاکتور رشد و تمایز-۵ (GDF-5) بر روی دیسک بین مهره‌ای در حال بررسی می‌باشد. Chujo و همکاران قابلیت

(CTGF) می‌باشد (جدول ۱) (۳۶ و ۳۷). همچنین پلاکت‌ها قادر به جذب، ذخیره و انتقال مولکول‌هایی هستند که در تنظیم بازسازی و ترمیم سلولی نقش دارند (۳۸). PRP اتولوگ در مقایسه با دیگر پیتیدهای زیست‌فعال و فاکتورهای رشد دخیل در بازسازی بافت، انتخاب بهتری به نظر می‌رسد. از طرفی به دلیل اینکه PRP اتولوگ از طریق سانتریفوژ کل خون خود فرد به دست می‌آید، از انتقال بیماری و واکنش‌های سیستم ایمنی ممانعت به عمل می‌آید (۳۹). با این حال، به دلیل طبیعت این چنین PRP به دست آمده، استفاده از این PRP در بیماران عاری از بیماری‌های خونی مناسب تر می‌باشد. به صورت کلی، تزریق PRP به دیسک بین مهره‌ای، روش کم‌تهاجمی تری نسبت به دیگر روش‌های درمانی همچون روش‌های مبتنی بر جراحی می‌باشد. با این حال، هنوز هم هنگامی که از روش تزریق PRP استفاده می‌شود می‌بایستی احتیاط لازم صورت پذیرد. استفاده از سوزن‌های کوچک تر برای این روش، سودمندتر می‌باشد و دلیل آن نیز این حقیقت است که سوراخ کردن دیسک بین مهره‌ای به وسیله سوزن

تخریب دیسک را توسط بیش تنظیم نمودن سنتز اگریکان و کلاژن و همچنین هدایت تحریک سلول‌های بنیادی مزانشیمی جهت تمایز به سلول‌های دیسک بین مهره‌ای بالغ فراهم می‌سازد (۳۱). در یک مطالعه *In vitro*، افزایش در فرآیند تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی و تمایز آن‌ها به رده غضروفی توسط PRP تایید شد (۳۲). اگریکان و کلاژن دو ترکیب مهم ماتریکس خارج سلولی دیسک بین مهره‌ای هستند که افزایش سنتز این دو از طریق اثرات هم‌افزایی (سینرژستیک) فاکتورهای رشد، باعث کمک به حفظ عملکرد دیسک‌ها می‌گردد (۳۱). اگریکان به عنوان یکی از پروتئوگلیکان اصلی موجود در دیسک، منجر به افزایش در جذب آب و فرآیند هیدراسیون دیسک می‌گردد (۳۳-۳۵). کلاژن بافت را به استخوان متصل کرده و باعث ایجاد یک مقاومت کششی در بافت می‌شود (۳۳). تمامی فاکتورهای رشد مختلف ترشح شده توسط پلاکت‌های فعال، نقش مهمی را در تکثیر بافت ایفا می‌کنند. این فاکتورهای رشد شامل فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، IGF-1، TGF- β ، EGF، bFGF، VEGF و فاکتور رشد بافت همبند

جدول ۱- مهم‌ترین فاکتورهای رشد موجود در پلاسمای غنی از پلاکت و عملکرد آن‌ها (۵۶ و ۵۸)

نام عامل رشد	نام به اختصار	عملکرد
فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت	PDGF	تحریک فرآیندهای تولید فیبروبلاست، IGF-1، کلاژن و همچنین کموناکسی، افزایش سنتز پروتئوگلیکان در فیبروبلاست‌ها، سلول عضلانی صاف، کندروسیت‌ها، استئوبلاست‌ها و سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تحریک فرآیندهای تکثیر، تمایز و مهاجرت سلول‌های هسته و پوسته دیسک و تولید ماتریکس خارج سلولی
فاکتور رشد شبه انسولینی-۱	IGF-1	تهییج آغاز رشد و تمایز سلولی، استفاده و کاربرد در استخوان، رگ خونی، پوست و دیگر بافت‌ها، افزایش بیان سنتز کلاژن همراه با فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت (PDGF) فیبروبلاست‌ها، تحریک تکثیر سلول‌های هسته و پوسته و سنتز ماتریکس خارج سلولی
فاکتور رشد انتقالی بتا-۱	TGF- β 1	شروع تکثیر فیبروبلاست، تشکیل ماتریکس خارج سلولی، بقای سلول، تولید کلاژن از فیبروبلاست، اثرات مهارکنندگی به واسطه اینترلوکین-۱ بر روی ساخت پروتئوگلیکان در غضروف، بیش تنظیمی بیان ژن‌های گلیکوزآمینوگلیکان، کلاژن نوع II و تولید ماتریکس خارج سلولی در سلول‌های پوسته دیسک
فاکتور رشد اندوتلیالی-عروقی	VEGF	تهییج آغاز رشد سلولی، مهاجرت، رشد رگ‌های خونی جدید، خاصیت ضدآپوپتوز در برابر سلول‌های رگ خونی
فاکتور رشد فیبروبلاست اولیه	bFGF	تحریک سنتز کلاژن، رگ زایی و تکثیر میوبلاست، تحریک تکثیر سلول‌های هسته و پوسته دیسک
فاکتور رشد اپیدرمی	EGF	به کارگیری فرآیندهای سلولی، تکثیر، تمایز، رگ زایی، القای ترشح سایتوکین در سلول‌های مزانشیمی و اپیتلیالی
فاکتور رشد بافت همبند	CTGF	تهییج آغاز رگ زایی، بازسازی غضروف، فیروز، اتصال پلاکت
پروتئین مورفوژنتیک استخوان-۲	BMP-2	تحریک فرآیند تمایز سلول‌های هسته و پوسته دیسک
پروتئین مورفوژنتیک استخوان-۷	BMP-7	تحریک فرآیند تمایز سلول‌های هسته و پوسته دیسک
پروتئین مورفوژنتیک استخوان-۱۲	BMP-12	تحریک فرآیند تمایز سلول‌های هسته و پوسته دیسک
فاکتور رشدی/تمایزی-۵	GDF-5	تقویت فرآیند متابولیسم آنابولیک سلول‌های هسته و پوسته دیسک



تصویر ۱- تصویر شماتیک از مواد تشکیل دهنده خون و پلاسمای غنی از پلاکت (۳۰)

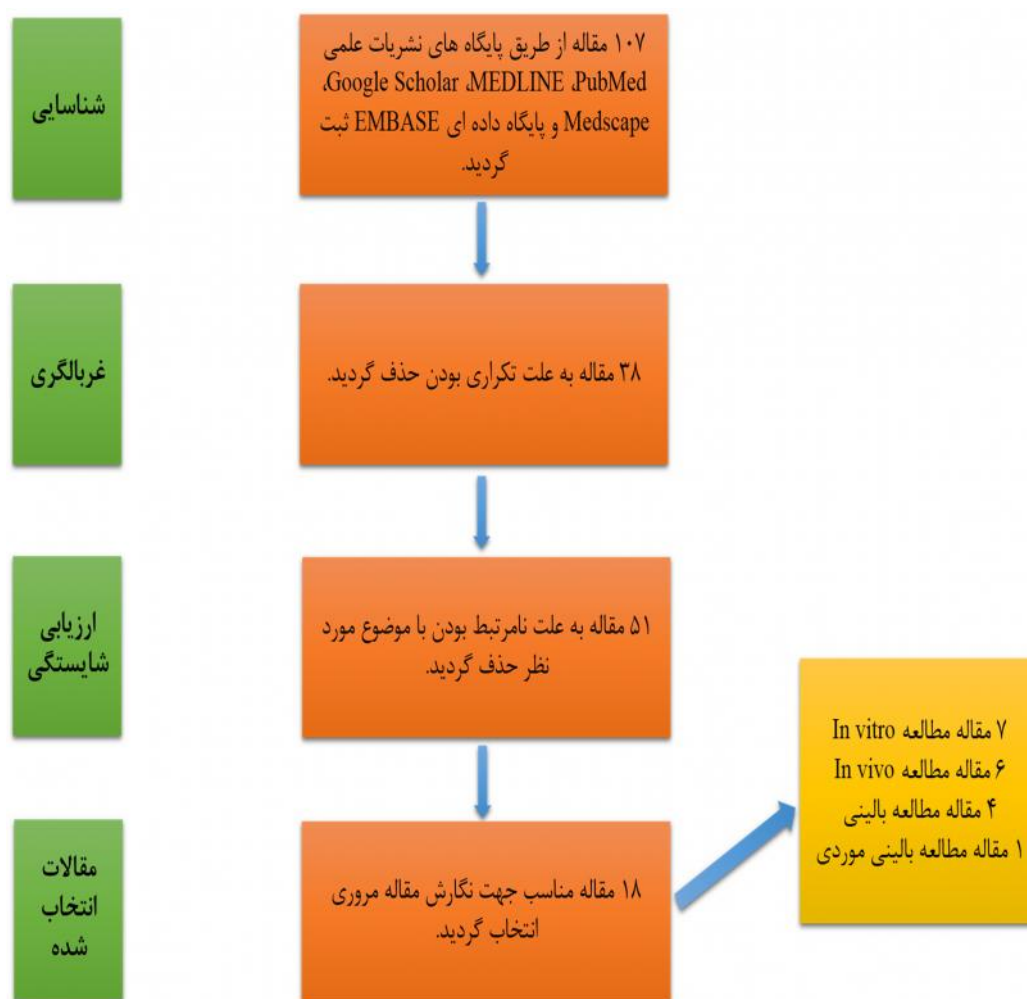
درمانی پایه ریزی شده است که به تاخیر انداختن و یا حتی معکوس نمودن فرآیند تخریبی دیسک بین مهره‌ای بیانجامد. در این مقاله سعی شده است که به مرور اهمیت PRP و مطالعات پیش بالینی و بالینی صورت پذیرفته با استفاده از PRP و دیگر فاکتورهای رشد موجود در آن جهت درمان دیسک تخریب شده پرداخته شود.

روش کار

در این مطالعه مروری، ترکیبات مختلفی از واژگان کلیدی شامل دژنراسیون دیسک بین مهره‌ای، پلاسمای غنی از پلاکت، PRP، فاکتورهای رشد و بازسازی دیسک بین مهره‌ای در پایگاه های نشریات علمی PubMed، Medline، Google Scholar، Medscape و پایگاه داده ای EMBASE به زبان انگلیسی مورد جستجو قرار گرفتند. بازه زمانی مقالات از سال ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۶ لحاظ گردید. دو نویسنده به طور جداگانه به بررسی عناوین و خلاصه های مقالات شناسایی شده جهت ارزیابی تناسب آن ها با زمینه تحقیقاتی موردنظر پرداختند. به منظور اطمینان از غیرمرتبط بودن منابع با موضوع، تمامی منابع مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین مقالات تکراری نیز از مقالات انتخاب شده حذف شدند (تصویر ۲).

(روش پانچر) می تواند سبب القای مرگ سلول و تخریب دیسک گردد (۴۲-۴۰). یک مطالعه بالینی توسط Kon و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام پذیرفت که طی آن کارایی بالینی PRP با هیالورونات (با وزن مولکولی بالا و پایین) مقایسه شد و PRP نتایج بهتری را پس از شش ماه پیگیری نشان داد (۴۳). سانچز و همکاران چهل بیمار مبتلا به آرتروز ران را بوسیله تزریق سه هفته یکبار PRP با هدایت سونوگرافی تحت درمان قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که پس از گذشت شش هفته کاهش چشمگیری در میزان سطح درد بیماران مشاهده شده است که این کاهش درد، حتی در ماه ششم پیگیری نیز تایید شد (۴۴). Beruzzi و همکاران، پنجاه و سه بیمار مبتلا به ضایعه عضلانی درجه دو را بوسیله تزریق سه نوبت در هفته PRP مورد ارزیابی قرار دادند. ۸۵٪ بیماران بهبودی نسبی را در درد و فعالیت شان در طول هفته اول گزارش دادند. بطوریکه همه بیماران پس از گذشت یک ماه فعالیت ورزشی را از نو شروع کردند (۴۵).

در چند سال گذشته برخی از دانشمندان اجرای یک استراتژی ترمیمی را بر اساس استفاده موضعی از PRP به منظور درمان IDD پیشنهاد نمودند (۲۴ و ۴۶). این استراتژی براساس روش های



تصویر ۲- مراحل مختلف ارزیابی و انتخاب مقالات مناسب جهت نگارش مقاله مروری حاضر

حامل PRP و نتایج به دست آمده. به منظور شناسایی دقیق تر نقش این اجزای کمکی، حامل را از داربست جدا کردیم و به صورت مستقل مطرح نمودیم.

همچنین، در این مقاله به بررسی مطالعات بالینی انجام شده با استفاده از PRP و فاکتورهای رشد موجود در آن با هدف درمان دیسک بین مهره‌ای تخریب شده پرداخته شد. نهایتاً، یک مطالعه بالینی موردی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

نحوه ارزیابی مقالات جهت ورود به مطالعه، با استفاده از منابع موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی، Google Scholar، Medline، PubMed، و پایگاه داده ای EMBASE به زبان

معیار خروج از مطالعه، مقالاتی بودند که در آن‌ها به ارزیابی قابلیت ترمیمی PRP در دیسک بین مهره‌ای پرداخته نشده بود. سپس، مطالعات پیش بالینی انتخاب شده به دو گروه مطالعات پیش بالینی انجام شده در شرایط In vitro و شرایط In vivo طبقه بندی شدند. علاوه بر این، مطالعات In vivo برای متغیرهای زیر مورد بررسی قرار گرفتند: سال مورد مطالعه، حجم نمونه، مدل حیوانی، ارزیابی بازسازی و ترمیم، سیستم مورد استفاده جهت تهیه PRP و نتایج حاصله.

همچنین مقالات مرتبط با مطالعات In vitro نیز برای متغیرهای زیر مورد آنالیز قرار گرفتند: سال انجام مطالعه، سیستم مورد استفاده جهت تهیه PRP/PL، نوع سلول، محیط کشت سلولی، زمان آنالیز، آنالیز متغیرها، فعال کننده، داربست سلولی،

مطالعه بالینی موردی صورت پذیرفته پرداختند. در هر کدام از مطالعات انجام شده (در شرایط In vitro و In vivo)، سیستمی جهت اخذ PRP مورد استفاده قرار گرفت که در آن سیستم منبع سلولی مورد استفاده و محیط کشت سلولی متفاوت بود. مهم‌ترین سلولی که در مطالعات مورد استفاده قرار گرفت، سلول‌های هسته دیسک بین مهره‌ای انسان بود. Akeda و همکاران، از سلول‌های هسته و پوسته دیسک بین مهره‌ای در مطالعاتشان استفاده نمودند (۴۷). مطالعات Mietsch و همکاران با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با سلول‌های هسته دیسک بین مهره‌ای صورت پذیرفت (۴۸). Liu و همکاران نیز، در مطالعه‌ای از یک نوع سلول نامیرای هسته دیسک بین

انگلیسی صورت پذیرفت. به این صورت که ابتدا ۱۰۷ مقاله از طریق پایگاه‌های نشریات علمی به ثبت رسیدند که از این تعداد مقالات، ۳۸ مقاله به علت تکراری بودن حذف گردید. همچنین، ۵۱ مقاله دیگر نیز به دلیل نامرتب بودن با موضوع مورد نظر حذف شدند. در پایان، ۱۸ مقاله با موضوع استفاده از PRP در تخریب دیسک بین مهره‌ای جهت نگارش این مقاله مروری انتخاب شدند. ۷ مقاله از این مطالعات در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) صورت پذیرفت (تصویر ۲ و جدول ۲) در حالی که ۶ مقاله از این مطالعات در شرایط بدن موجود زنده (In vivo) انجام شد (تصویر ۲ و جدول ۳). همچنین، ۴ مقاله به مطالعات بالینی انجام پذیرفته و ۱ مقاله نیز به یک

جدول ۲- مطالعات انجام شده در شرایط In vitro

نویسندگان	سال	سیستم‌های مورد استفاده جهت به دست آوردن پلاکت/PRP	نوع سلول	محیط کشت سلولی	زمان آنالیز	متغیرهای بررسی شده	فعال کننده	داربست سلولی	نتایج
Akeda و همکاران	۲۰۰۶	سیستم تغلیظ پلاکت (Depuy Spine, Raynham, MA, USA)	سلول‌های هسته و پوسته دیسک خوک	محیط کشت عاری از سرم، محیط کشت حاوی FBS ده درصد، محیط کشت حاوی PPP ده درصد، محیط کشت حاوی PRP ده درصد	۳ روز	تکثیر سلولی، محتوای پروتئوگلیکان	محلول ترومبین ده درصد (حجمی/حجمی، ۱۰۰۰ واحد/ میلی لیتر در ۱۰۰ میلی مولار/لیتر کلرید کلسیم)	دانه‌های آلژیناتی	تجمع گلیکوزآمینوگلیکان‌ها افزایش یافت، بیان ژن SOX9، کلاژن نوع II و اگریکان بیش تنظیم شدند
Chen و همکاران	۲۰۰۶	سیستم جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی خونی (Haemonetics Corp, Braintree, MA, USA)	سلول‌های هسته دیسک انسان	محیط کشت شامل غلظت‌های مختلف PRP/TGF-1 در FBS یک درصد حاوی محیط DMEM/F12	۷ روز، ۹ روز، ۴ هفته	تکثیر سلولی، ارزیابی سطح بیان mRNAهای اگریکان، کلاژن نوع II، SOX9 و GAG. آنالیز بافت‌شناسی	ترومبین گاوی (IU۱۰۰) ترومبین گاوی/ ۱۵۰ سی سی (PRP)	-	القای تکثیر هسته دیسک و تمایز به غضروف
Kim و همکاران	۲۰۱۳	سیستم GPS III (Biomet, Inc., Warsaw, IN)	سلول‌های هسته دیسک انسان	محیط کشت شامل محیط MEM/F12 حاوی FBS یک درصد، آنتی بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین و ۲۵ میلی گرم/میلی لیتر ال-آسکوربیک اسید	۲ روز	ارزیابی سطح بیان mRNAهای COX-2، MMP-3 اگریکان و کلاژن نوع II	-	-	PRP می‌تواند آنزیم‌های تجزیه‌کننده فرآیند پیش التهاب ایجاد شده توسط سایتوکین‌ها را مهار می‌کند که باعث افزایش ژن‌های مرتبط با سنتز ماتریکس می‌گردد که در پایان باعث ایجاد ثبات تمایز سلول‌های هسته دیسک می‌گردد

ادامه جدول ۲

Mietsch و همکاران	۲۰۱۳	سانتریفوز و فیلتراسیون دوتایی	سلول های هسته دیسک انسان، سلول های بنیادی مزانشیمی	محیط DMEM حاوی FCS پنج درصد ال- گلوتامین یک درصد، اسیدهای آمینه غیرضروری یک درصد، آنتی بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین یک درصد و فانگیزون نیم درصد	۷ روز، ۴ هفته	ارزیابی سطح بیان mRNAهای اگریکان، کلاژن نوع II، کلاژن نوع I و SOX9، ارزیابی ایمنوبافت شناسی، آنالیز مکانیکی	۱۰۰ سی سی اسید استیک ۲.۵ نرمال/اوره ۱۰ مولار	-	ترکیب فاکتورهای رشد موجود در PRP، تکثیر را نسبت به تمایز به غضروف القا می کند
Liu و همکاران	۲۰۱۴	-	سلول های نامیرای دیسک انسان	محیط DMEM/F12 و سپس در معرض لیپوبلی ساکارید (۲۰۰ نانوگرم/اسی) (۲۰۰ نانوگرم/اسی) به همراه PRP یا بدون PRP به عنوان کنترل	۷ روز، ۴ هفته	ارزیابی بیان SOX9، کلاژن نوع II و اگریکان، TNF-a، IL-1b و MMP3، ارزیابی بافت شناسی و ایمنوهیستوشیمی	-	داربست های کلاژنی دویعدی و سه بعدی	PRP باعث تحریک بیان نشانگرهای غضروفی شده و بیان واسطه های التهابی و آنزیم های تجزیه کننده ماتریکس سلول های هسته دیسک انسانی را در هر دو محیط دویعدی به صورت تک لایه و داربست سه بعدی را مهار می کند
Pirvu و همکاران	۲۰۱۴	روش های سانتریفوز، سوسپانسیون و سونیکاسیون (INTERCEPT Blood System)	سلول های پوسته انسان	محیط حاوی ۲۵ درصد PRP و ۷۵ درصد DMEM، محیط حاوی ۵۰ درصد PRP و ۵۰ درصد DMEM، محیط حاوی ۲۵ درصد پلاکت و ۷۵ درصد DMEM، محیط حاوی ۵۰ درصد پلاکت و ۵۰ درصد DMEM، محیط حاوی ۱۰ درصد FBS و ۵۰ درصد DMEM، محیط به عنوان کنترل	۲ روز، ۴ روز، ۷ روز	تکثیر سلولی، ارزیابی بیان mRNA می دکورین، ورسیکان، اگریکان، کلاژن نوع I و II و GAG	-	هر دوی پلاکت و PRP، اثرات تکثیری مناسبی را بر روی سلول های پوسته دیسک نشان داده و قادر به افزایش تولید ماتریکس خارج سلولی در شرایط In Vitro بودند	
Bach و همکاران	۲۰۱۶	-	سلول های شبه کندروستی از دیسک تخریب شده انسان، دیسک بین مهره ای کندرودیستروفیک و غیر کندرودیستروفیک سگ	محیط پایه همراه با ۱۰ نانوگرم/اسی سی CTGF-1 یا ۲۵۰ نانوگرم/اسی سی BMP-2	۲۸ روز	ارزیابی RT-QPCR، بافت شناسی، ایمنوهیستوشیمی، تکثیر سلولی، محتوای GAG، تولید ماتریکس خارج سلولی، محتوای DNA، آپوپتوز، رنگ آمیزی با سافرونین او	-	هیدروژل مبتنی بر آلبومین BMP-2 بر روی القای تمایز مجدد فیبروتیک بر خلاف TGF-1 اثری نداشت	

نوع محیط مختلف (عاری از سرم، سرم جنین گاوی ده درصد، پلاسمای حاوی محتوای پایین پلاکت، پلاسمای غنی از پلاکت ده درصد) استفاده نمودند (۴۷)، در حالی که Pirvu و همکاران، چهار نوع محیط با پلاسمای غنی از پلاکت متفاوت یا عصاره تغلیظ شده پلاکت را مورد ارزیابی قرار دادند (۵۰). Liu و همکاران، از محیط DMEM/F12 که در معرض لیپوساکارید (۲۰۰ نانوگرم/میلی لیتر) یا لیپوساکارید همراه با PRP

مهره‌ای استفاده کردند (۴۹). Pirvu و همکاران، سلول‌های پوسته دیسک گاوی را مورد ارزیابی قرار دادند (۵۰). هیچ گونه تشابهی در مورد زمان آنالیز در بین مطالعات منتخب وجود نداشت. طول مدت آنالیز در این مطالعات از دو تا نه روز در نظر گرفته شدند. بیشترین محیط کشت به کار رفته در این مطالعات، محیط کشت DMEM همراه با درصدهای مختلف از سرم جنین گاوی یا سرم جنین گوساله بود (FCS یا FBS). Akeda از چهار

جدول ۳- مطالعات پیش بالینی انجام شده در شرایط *In vivo* بر روی مدل های حیوانی

نویسندگان	سال	سیستم های مورد استفاده جهت به دست آوردن پلاکت/PRP	مدل حیوانی	اندازه نمونه	زمان آنالیز پس از تزریق	ارزیابی بازسازی	فعال کننده	داربست سلولی	نتایج
Nagae و همکاران	۲۰۰۷	سانتریفوژ	خرگوش سفید ژاپنی	۳۶	۲ هفته ۴ هفته ۸ هفته	ارزیابی بافت شناسیکی بیان mRNA پروتئوگلیکان، مشاهده فراساختاری سلول های هسته دیسک	-	ریزحفره ها هیدروژل ها ژلاتین	کاهش در میزان تخریب، افزایش در بیان mRNA پروتئوگلیکان
Sawamura و همکاران	۲۰۰۹	سانتریفوژ	خرگوش سفید ژاپنی	۱۲۸	۲ هفته ۴ هفته ۸ هفته	MRI، پروتئین هسته، پروتئوگلیکان، کلاژن نوع II، تکثیر سلولی، آپوپتوز سلولی	-	ریزحفره ها هیدروژل ها ژلاتین	ارتفاع دیسک بین مهره ای افزایش یافته است بیان پروتئین هسته پروتئوگلیکان و کلاژن نوع II افزایش یافته است هیچ سلول تکثیری و سلول های آپوپتوزی کاهش یافته است
Chen و همکاران	۲۰۰۹	سانتریفوژ	خوک مینیاتوری	۱۴	۴ هفته ۸ هفته	تکثیر سلولی، آنالیز اشعه ایکس، بررسی بیان mRNA پروتئین های ماتریکس استخوان ساز و غضروف ساز	-	-	PRP باعث شروع و تکثیر بازسازی هسته دیسک می شود، شاخص ارتفاع دیسک و تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی به استخوان بهبود می یابد
Gullung و همکاران	۲۰۱۱	-	موش صحرایی نژاد Sprague-Dawley	۱۸	۲ هفته ۴ هفته ۶ هفته	MRI، ارزیابی بافت شناسی	-	-	محتویات مایع IVD حفظ شد، تخریب دیسک بین مهره ای کاهش یافت
Obata و همکاران	۲۰۱۲	سانتریفوژ	خرگوش سفید ژاپنی	۱۲	۸ هفته	MRI، تکثیر سلولی	سرم اتولوگ و کلرید کلسیم ۲ درصد	-	تکثیر سلولی افزایش یافت، هیچ تغییر آماری بر روی یافته های MRI مشاهده نشد
Hu و همکاران	۲۰۱۲	سانتریفوژ	خرگوش سفید ژاپنی	۴۵	۱ هفته ۲ هفته	MRI، تکثیر سلول های هسته دیسک، ارزیابی بیان mRNA کلاژن نوع II	محلول ترومبین ۱۰ درصد (حجمی/حجمی، ۱۰۰۰ واحد/ میلی لیتر در ۱۰۰ میلی مولار/لیتر کلرید کلسیم)	-	تخریب دیسک بین مهره ای کاهش یافت، ماتریکس خارج سلولی تولید شد

(۴۹). فراوان ترین متغیرهای مورد آنالیز در شرایط *In vitro* و *In vivo* به ترتیب زیر بودند: تکثیر سلول و بازسازی ماتریکس خارج سلولی از

قرار گرفته بودند استفاده نمودند (۴۹). در این آزمایش، از محیط DMEM/F12 عاری از لیپوساکارید و PRP به عنوان کنترل استفاده شد

نظر سطح بیان mRNA پروتئوگلیکان های مختلف.

۱- مطالعات *In vitro* و مطالعات پیش بالینی

در مطالعات انجام شده در *In vitro*، محلول فعال کننده PRP به صورت چشمگیری متفاوت بود، در حالیکه در چندین تحقیق، از هیچ فعال کننده ای استفاده نشد. داربست سلولی تنها در ۳ مقاله مورد بررسی قرار گرفتند (۴۷ و ۴۹ و ۵۱). هیچ حامل پلاسمایی غنی از پلاکتی استفاده نشد. تعداد ۱ مقاله، پتانسیل بازسازی عصاره پلاکتی را مورد بررسی قرار دادند (۵۱). ۲ مقاله نیز نقش پلاسمای غنی از پلاکت را در واسطه گری واکنش های التهابی القا شده توسط سایتوکین گزارش نمودند (۵۰ و ۵۲). Liu, Mietsch, Chen, Pirvu همراه با ارزیابی مطالعات آزمایشگاهی، آنالیز بافت شناسی را نیز به ترتیب در هفته سوم در سه مطالعه اول و در روز هفتم در یک مطالعه آخر انجام دادند (۵۰-۴۸ و ۵۲). Chen همکاران، اثرات PRP را در تکثیر و القای بیان ژن های ویژه غضروف در محیط دو بعدی کشت سلول های هسته دیسک بین مهره ای انسان مورد بررسی قرار دادند (۵۲). هدف این محققان از انجام این مطالعه، ارزیابی و تعیین تجمع پروتئوگلیکان در سلول های هسته دیسک بین مهره ای تیمار شده با PRP و اثرات ضد آپوپتوزی آن ها بودند. آن ها اعلام کردند که با استفاده از PRP (حدوداً ۷ تا ۱۱ برابر بیشتر از کنترل) توانسته اند تکثیر سلول های هسته دیسک بین مهره ای و تجمع پروتئوگلیکان ها را افزایش دهند. چند سال بعد، akeda و همکاران، مطالعه ای را در شرایط آزمایشگاهی، با هدف بررسی اثرات PRP بر روی ماتریکس خارج سلولی، سلول های هسته و پوسته دیسک بین مهره ای تخریب شده مدل حیوانی خوک انجام دادند (۴۷). در این مطالعه، سلول های هسته و پوسته دیسک بین مهره ای به وسیله روش آنزیمی جداسازی شده و در پلیت های کشت ۲۴ چاهکی کشت شدند. سپس، مولفه های سنتز پروتئوگلیکان و کلاژن، تجمع پروتئوگلیکان و تکثیر سلولی از لحاظ بیوشیمیایی مورد سنجش و

ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دادند که PRP، اثر مهارکنندگی خفیفی را بر روی تکثیر سلول های دیسک تخریب شده داشته و سنتز پروتئوگلیکان و کلاژن را افزایش می دهد. Kim و همکاران، نقش PRP را در مهار پاسخ التهابی در قالب مطالعه ای بر روی کشت تک لایه سلول های هسته دیسک بین مهره ای بر روی ماتریکس کلاژنی مورد بررسی قرار دادند (۵۳). در این مطالعه، علاوه بر PRP، از اینترلوکین-۱ و فاکتور نکروز تومور- α (TNF- α) نیز استفاده شد و نتایج نشان داد که استفاده از PRP می تواند کاهش قابل توجهی را در ترشح سایتوکین های پیش التهابی که باعث تحریک و القای تولید آنزیم های تجزیه کننده می شوند ایجاد نماید. همچنین، PRP با استفاده از بهبود بیان ژن کلاژن نوع II و اگریکان، باعث افزایش در مقدار سنتز ماتریکس خارج سلولی نیز شد. Mietsch و همکاران، پتانسیل تکثیری و قابلیت تمایز به رده غضروفی سلول های هسته دیسک بین مهره ای و سلول های بنیادی مزانشیمی را در محیط دارای PRP یا TGF-1 تحت فشار هیدرواستاتیک ارزیابی کردند (۴۸). در این مطالعه، نمونه تازه مغز استخوان اخذ گردید. سلول های بنیادی مزانشیمی این نمونه، جداسازی شده و به صورت تک لایه در محیط کشت DMEM کشت داده شدند. سلول های هسته دیسک بین مهره ای انسان از نمونه دیسکی اخذ شده از بیماران تحت عمل جراحی نیز، جداسازی شدند. همچنین، این سلول ها کشت و تکثیر شدند. سپس، هر دو نوع سلول به صورت پلت (Pellet) یا بر روی دانه های آلژیناتی کشت شدند. در این مطالعه، سلول های کشت شده در محیط حاوی TGF-1، تمایز بیشتری را به غضروف در مقایسه با سلول های کشت شده در محیط حاوی PRP نشان دادند. بر خلاف این نتایج نیز در مورد بیان ژن های تکثیری مشاهده شد که طی آن، سلول های کشت شده در محیط حاوی PRP، بیان بیشتری را در مقایسه با سلول های کشت شده در محیط حاوی TGF-1 از نظر بیان ژن های تکثیری نشان دادند. همچنین، فشار هیدرواستاتیکی به عنوان یک ماده کمکی، اثر

همراه با غلظت های مختلف PRP و عصاره پلاکتی کشت شدند. در این مطالعه، FBS و DMEM به عنوان محیط کنترل در نظر گرفته شد. همچنین در این مطالعه، بیان mRNAی چندین پروتئوگلیکان و تکثیر سلولی مورد بررسی قرار گرفت و یک ارزیابی بافت شناسی در یک مدل کشت اندام انجام شد. محققان این مطالعه، نتیجه گرفتند که PRP و عصاره پلاکتی، برخی از اثرات تکثیری را بر روی سلول های پوسته دیسک القا کرده و افزایش تجمع ماتریکس خارج سلولی را نیز تحریک می نمایند. تمامی مطالعات آزمایشاتی در داخل بدن موجود زنده نیز به استثنای یکی از آن ها به صورت تصادفی صورت پذیرفت. در این آزمایشات (In vivo)، از مدل خرگوشی در ۴ مطالعه از تعداد کل ۶ مطالعه استفاده شده است (۴۲ و ۵۶-۵۴). همچنین، ۱ مطالعه بر روی موش صحرایی انجام پذیرفت (۴۰) و ۱ مطالعه نیز از خوک مینیاتوری به عنوان مدل حیوانی استفاده نمود (۵۷). از ۶ مطالعه مورد بررسی در این مقاله مروری، ۵ مطالعه از روش سانتریفوژ جهت اخذ PRP استفاده نموده است در حالی که برخی از مطالعات همچون مطالعه انجام شده توسط Gullung و همکاران اعلام نمودند که از چه روشی جهت اخذ PRP استفاده کرده اند (۴۰). کل جمعیت نمونه حیوانی ۲۵۳ عدد بود، که این تعداد نمونه، مربوط به کل مطالعات مورد بررسی بود و فقط یک مطالعه از این مطالعات، بیش از صد نمونه حیوانی را مورد ارزیابی قرار داد (۵۵). بیشترین طول زمان پیگیری بیماران در ۴ مطالعه ارزیابی شده، ۸ هفته بود (طیف بین ۱ تا ۸ هفته) (۴۰ و ۴۲ و ۵۵ و ۵۶). ارزیابی بافت شناسی، فراوان ترین روش جهت بررسی میزان بازسازی مطالعات انجام شده بود. مهم ترین روش رنگ آمیزی در ارزیابی بافت شناسی، رنگ آمیزی با هماتوکسیلین/ ائوزین بود. در مطالعه انجام شده توسط Obata و همکاران، از رنگ آمیزی سافرونین-او (safronin-o) نیز به منظور شناسایی واضح تر سلول های شبه غضروفی استفاده شد (۴۲). Chen و همکاران از رنگ آمیزی alcian blue، جهت تشخیص وضعیت سنتز پروتئوگلیکان

مثبتی را در حالت غیراستاندارد نشان داد. تعدادی از مطالعات با استفاده از مدل های حیوانی به طور تقریبی نشان دادند که یکبار تزریق PRP به دیسک های بین مهره‌ای تخریب شده می تواند در بهبود دیسک به واسطه بازسازی آن موثر باشد. برای مثال، Obata و همکاران از یک مدل خرگوشی استفاده کردند و نتیجه گرفتند که یک تزریق بین دیسکی PRP توانایی ایجاد ترمیم و برگرداندن طول از دست رفته دیسک را داشته و منجر به تکثیر سلولی می گردد (۴۱ و ۴۲). Gullung و همکارانش با انجام ارزیابی MRI نتیجه گرفتند که یک مرحله تزریق PRP به دیسک های بین مهره‌ای موش های صحرایی نژاد Sprague-Dawley با هدف حفظ قابلیت آن، موثر به نظر می رسد (۴۰). شواهد سودمند حاصل از تزریق یک مرحله PRP با استفاده از سوزن های کوچک که در این مطالعه (Gullung و همکاران) به دست آمد ممکن است جهت تایید این روش در بیماران مبتلا به تخریب دیسک بین مهره‌ای نیز کافی باشد (۴۰). Liu و Coll، از یک رده سلول هسته دیسک بین مهره‌ای نامیرا استفاده کردند و یک پاسخ التهابی را به وسیله لیوپلی ساکراید در آن ها تحریک نمودند تا ارزیابی رفتار سلولی، هنگام اضافه شدن PRP را بررسی کنند (۴۹). سلول های هسته دیسک بین مهره‌ای از مردی ۳۹ ساله مبتلا به تخریب دیسک بین مهره‌ای اخذ شد. پس از چند بار فرآیند محلول سازی و فیلتر نمودن، سلول های هسته بر روی دیش های کشت بافتی کشت شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و میزان دی اکسید کربن پنج درصد قرار گرفتند. برخلاف آزمایش Mietsch و همکاران (۴۸)، این مطالعه اثرات چشمگیر PRP بر روی آغاز تمایز غضروفی همراه با قابلیت ضدالتهابی آن را آشکار نمود. این نتایج، با تاکید بر اثرات ضدالتهابی PRP، مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران (۵۳) را نیز تایید نمود. اخیراً، Pirvu و همکاران، پتانسیل ترمیمی PRP و عصاره پلاکتی را بر روی سلول های پوسته گاوی مورد بررسی قرار دادند (۵۰). سلول های پوسته دیسک بین مهره‌ای حاصل از مدل حیوانی گاو، در پلیت های ۲۴ چاهکی

مورد استفاده جهت انتقال PRP به دیسک های تخریب شده بود و در دو مطالعه آزمایشاتی مورد استفاده قرار گرفت (۵۴ و ۵۵). جهت اشباع این ریزحفره ها با PRP، محققان در هر دو مطالعه، ۶۰ میلی گرم PRP را بر روی ۳ میلی گرم از ریزحفره های استریل شده قطره گذاری نمودند و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به منظور ترکیب شدن قرار گرفتند. ترکیبی از سلول های بنیادی مزانشیمی و PRP در یک مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفتند (۵۷). Nagae و همکاران در سال ۲۰۰۷، نتایج به دست آمده از گروه های تیمار شده با ریزحفره های هیدروژل-ژلاتین-PRP را با PRP تنها، یا ریزحفره های اشباع شده با PBS مقایسه نمودند (۵۴). نویسندگان، کاهشی را در میزان تخریب دیسک بین مهره های همراه با افزایش در بیان پروتئوگلیکان در گروه تیمار شده با ریزحفره-هیدروژل-ژلاتین-PRP مورد تاکید قرار دادند. آنالیز بافت شناسی نشان داد که گروه تیمار شده با ریزحفره-هیدروژل-ژلاتین-PRP کاهش معنی داری را در ایجاد ضایعات هسته و پوسته دیسک بین مهره های در مقایسه با دیگر گروه ها نشان می دهد. دو سال بعد، همین محققین، مطالعه قبلی اشان را با اضافه کردن نتایج آنالیز تصویربرداری MRI تکمیل نمودند. همچنین آن ها، افزایش در سنتز ماتریکس خارج سلولی و تکثیر سلول ها پس از تزریق ریزحفره-هیدروژل-ژلاتین-PRP را تایید نمودند. بر طبق یک روش موازی، آن ها افزایشی را در ارتفاع دیسک بین مهره های بر روی آزمایشات تصویربرداری MRI مشاهده نمودند. در هر دوی این مطالعات، PRP با استفاده از حامل های ریزحفره-هیدروژل-ژلاتینی حمل شده و به محل هدف تحویل داده شد (۵۴ و ۵۵). Chen و همکاران، یک مدل تخریب شده دیسک بین مهره های را، جهت ارزیابی توانایی بازسازی سه نوع رژیم درمانی مختلف شامل سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از خوک تراریخته eGFP، PRP و ترکیب سلول های بنیادی مزانشیمی-PRP/GFP در شرایط *ex vivo* مورد استفاده قرار دادند (۵۷). این یافته ها در بدن موجود زنده (*In vivo*) نیز تایید شد. به منظور دستیابی به مدل *Ex vivo*

در بافت دیسک مهره های تخریب شده و رنگ آمیزی Von koss، جهت شناسایی ماتریکس استخوانی بالغ استفاده نمودند (۵۷). در ۴ مطالعه از ارزیابی ایمنو هیستوشیمی استفاده شد (۴۲ و ۵۷-۵۵). Sawamura و همکاران، فعالیت سلول های دیسک بین مهره های تخریب شده را، توسط روش ایمنو هیستوشیمی برای آنتی ژن هسته ای سلول در حال تکثیر (PCNA) ارزیابی نمودند (۵۵). Chen و همکاران، ارزیابی کمی تولید ماتریکس خارج سلولی را، با استفاده از ایمنو هیستوشیمی آنتی بادی مونوکلونال کلاژن نوع II انجام دادند (۵۷). در مطالعه Nagae و همکاران، ارزیابی ایمنو هیستوشیمی پروتئوگلیکان، با انکوبه شدن بخش هایی از نمونه با یک آنتی بادی مونوکلونال پروتئوگلیکان غضروف ضد انسانی موش صورت پذیرفت (۵۴). در ادامه پس از چندین بار شستشو با PBS، نمونه با ایمنوگلوبین ضد موشی تیمار گردید. در نهایت، نمونه با محلول حاوی دی آمینو بنزیدین-تتراهیدروکلرید واکنش داده شد و با همتوکسیلین رنگ آمیزی شد. یک آزمایش ایمنوفلورسنس جهت تایید رنگ آمیزی پروتئوگلیکان انجام پذیرفت. Hu و همکاران، به منظور سنجش کمی تولید ماتریکس خارج سلولی، یک رنگ آمیزی ایمنو هیستوشیمیایی کلاژن نوع II را انجام داد (۵۶). در دو تحقیق آزمایشاتی به منظور ارزیابی بیان ژن، از RT-PCR استفاده شد (۴۲ و ۵۶). Sawamura و همکاران، سلول های آپوپتوز شده را با دئوکسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز به واسطه رنگ آمیزی با بیوتین-dUTP آشکار سازی نمودند (۵۵). از روش تصویربرداری MRI، در چهار مطالعه از ۶ مطالعه کل استفاده شد (۴۰ و ۴۲ و ۵۵ و ۵۶). آنالیز فراساختاری به وسیله اشعه ایکس، در دو مطالعه مختلف صورت پذیرفت (۵۴ و ۵۷). فعال کننده های PRP مختلفی در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفتند. Obata، از یک سرم اتولوگ به همراه کلرید کلسیم دو درصد به عنوان فعال کننده PRP استفاده کردند (۴۲). Hu و همکاران، از یک محلول ترومبین همراه با کلرید کلسیم استفاده نمودند (۵۶). ریزحفره های هیدروژلی تنها حامل

گرفتن در معرض محرک های التهابی بیان می گردند، کاهش می دهد. برخورد بسیاری از مسیرهای ضدالتهابی به مسیر NF- B، این مسیر را به یک هدف مهم جهت توضیح و درک بیشتر و همچنین هدف قرار دادن پتانسیل درمانی تبدیل نموده است. ابرخانواده TGF- و اعضای تشکیل دهنده آن از خانواده BMP نیز در بیماری تخریب دیسک نقش داشته و تاثیرگذار می باشند. در شرایط آزمایشگاهی و کشت، تحریک سلول ها با BMP-2 یا TGF-3 بیان پروتئین های ماتریکی همچون کلاژن و اگریکان را افزایش می دهد. با این حال، یک ریزنمونه بافت مدل خرگوشی، استخوان سازی را در پوسته دیسک از طریق کاربرد BMP-2 و TGF-3 نشان داده بود. به طور مشابه، فاکتور رشد شبه انسولینی-1 (IGF-1) در بافت دیسک بین مهره‌ای، تولید پروتئوگلیکان را در یک شرایط وابسته به دوز افزایش داده است. استفاده درمانی از IGF-1 و دیگر فاکتورهای رشد در دوزهای موثر، نیاز به تعادل تقاضاهای متابولیک درد دیسک بدون شریان داشته و تغییرات در شرایط سلولی با افزایش شدت بیماری همراه است. این کلاس درمانی قبل از شروع بیماری دیسک بین مهره‌ای شدید موثرتر باشد.

این اعتقاد وجود دارد که در مراحل اولیه ابتلا به بیماری تخریب دیسک بین مهره‌ای، استفاده از فاکتورهای رشد مختلف می تواند با فرآیندهای تکثیر سلولی و تجمع ماتریکس خارج سلولی، باعث حفظ سلول های عملکردی درون دیسک آسیب دیده شود که این عمل می تواند به حفظ و بازگرداندن ساختار و عملکرد دیسک آسیب دیده منجر گردد. این فاکتورهای رشد به صورت فراوان درون PRP وجود دارند.

۲- آزمایشات بالینی

اولین مطالعه بالینی استفاده از تزریق درون دیسکی PRP، در بیماری تخریب دیسک بین مهره‌ای توسط akeda و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد که اطلاعات حاصل از این مطالعه، طی یک مقاله پوستر در همایشی ارائه شد (۵۸). این مطالعه به بررسی کارایی و تأثیر PRP تزریق شده به بیماران مبتلا به کمردرد با منشا دیسکوژنیک

خوک مینیاتوری کشته شد و بافت دیسک بین مهره‌ای کامل از ستون فقرات کمری آن از T13 تا L5 جداسازی گردید. آن ها نتیجه گرفتند که هم در شرایط Ex vivo و هم در شرایط In vivo، سلول های بنیادی مزانشیمی-GFP یا PRP، اگر به تنهایی مورد استفاده قرار گیرند، منجر به بیان mRNA مرتبط با غضروف سازی و ساخت ماتریکس خارج سلولی در سلول های تزریق شده می گردند. به طور غیر منتظره ای، ترکیبی از هر دوی اینها منجر به تمایز به استخوان گردید. این نتایج در مدل In vivo نیز به تایید رسیده است. در مطالعات آزمایشاتی کنترل شده ای که به صورت تصادفی انجام پذیرفت، Gullung و همکاران (۴۰)، اثر تزریق با تاخیر PRP، درمدل موشی را مورد ارزیابی قرار داد. آن ها از هر یک از شش حیوان، سه گروه نمونه را ایجاد نمودند و در دو تا از اینها، یک مطالعه ضایعه دیسک بین مهره‌ای را ایجاد نمودند. تزریق PRP در زمان ایجاد ضایعه، به عنوان گروه اول و تزریق PRP دو هفته پس از ایجاد ضایعه، به عنوان گروه دوم در نظر گرفته شد. کاهش در سرعت تخریب در هر دو گروه به اثبات رسید، اما حیوانات در گروه اول، بازسازی سریعتری را نشان دادند. Hu و همکاران، مطالعه بالینی را بر روی چهل و پنج خرگوش نژاد نیوزیلند انجام دادند و طی آن، اثرات تزریق اتولوگ PRP را به ترتیب در طیف های زمانی اوایل ایجاد تخریب دیسک، یک هفته و دو هفته پس از ایجاد تخریب دیسک مورد بررسی قرار دادند (۵۶). کاهش در میزان تخریب دیسک در تمامی گروه ها مشاهده شد، اما با وجود این نتایج، برخی از شواهد در تقابل با نتایج قبلی می باشد. Obata و همکاران در سال ۲۰۱۲، موفق به نشان دادن هیچ گونه تفاوت آماری بر روی یافته های حاصل از روش تصویربرداری MRI نشدند؛ به رغم اینکه، افزایشی در تکثیر سلولی گروه تیمار شده با PRP مشاهده شد (۴۲).

همچنین، استفاده از PRP به طور به صورت معنی داری به بازگرداندن بیان ژن کلاژن نوع II و اگریکان کمک کرده و به صورت معنی داری بیان ژن های MMP-3 و COX-2 را که در اثر قرار

قابل توجهی از لحاظ آماری در بیماران که PRP داخل دیسکی را دریافت نمودند در مقایسه با گروه کنترل با توجه به درد (NRS best pain)، عملکرد (FRI) و رضایت مندی بیماران (پرسش نامه نتیجه NASS) مشاهده شد. در نقطه زمانی هفته هشتم، ۶۸٫۲ درصد بیماران کنترل درخواست داشتند که درمان PRP را مجدداً انجام دهند. این بیماران، به عنوان یک گروه جداگانه پس از هفته هشتم در نظر گرفته شدند. نتایج گروه کنترل و گروه تیمار شده با PRP که بیش از هشت هفته از نقطه نظر زمانی، تحت درمان بودند قابل مقایسه نبود. آنالیز طولی در بیماران گروه PRP اصلی در نقاط زمانی شش ماه، یکسال و دوسال انجام پذیرفت. این محققین دریافتند که بهبودهایی در هر نقطه زمانی با توجه به مولفه های درد (NRS best pain)، عملکرد (FRI) و SF-36 (هم درد و هم عملکرد) در گروه PRP صورت پذیرفت. بهبود کلینیکی قابل توجهی به صورت پایدار، طی دو سال پس از تزریق از نقطه نظر NRS برای درد بیشتر - نقاط ۲٫۱۲ (P<0.01)، عملکرد FRI - نقاط ۲۵٫۸۱ (P<0.01) و درد SF-36 ۲۳/۹۹ + (P<0.01) و عملکرد SF-36 ۱۸/۰۴ + (P<0.01) مشاهده گردید. در طول این دوره از آزمایش بالینی، هیچ عوارض جانبی در مورد عفونت فضای دیسکی، آسیب عصبی یا فتق پیشرونده پس از تزریق PRP مشاهده و گزارش نشد. با حصول اطلاعات بالینی قابل توجه و مثبت، پس از گذشت یکصد و چهار هفته، نویسندگان متقاعد شدند که مطالعات بیشتری را جهت جستجوی روش ها و راه هایی با هدف بهینه سازی PRP تزریق شده، جهت تولید هرچه بهتر نتایج بالینی به صورت بالقوه انجام دهند.

در مطالعه بالینی دیگری که توسط Hussein و همکاران (۲۰۱۶) صورت پذیرفت، به ارزیابی کلینیکی تزریق پلاسمای غنی از لکوسیت پلاکت (PLRP) بر روی ۱۵۰ بیمار پرداخت (۶۱). در این مطالعه، تزریق هفتگی PRP به مدت ۶ هفته در نظر گرفته شد و زمان پیگیری نیز ۲ سال در نظر گرفته شد. در این مطالعه بالینی، نتایج مطلوبی به دست آمد؛ به طوری که تزریق PLRP به عنوان یک

پرداخت. بر طبق گزارش این مقاله، تعداد کمی از بیماران (۳ مرد و ۳ زن) در این مطالعه ثبت نام نمودند. پس از گذشت ۶ ماه پس از تزریق، نتایج توسط مولفه های بالینی و رادیولوژیکی (رادیولوژی و MRI) پیگیری شد. نتایج این پیگیری ۶ ماهه، بهبود قابل توجهی را در وضعیت بیماران نشان داد. Levi و همکاران نیز (۲۰۱۵) از تزریق درون دیسکی PRP جهت درمان بالینی بیماری تخریب دیسک بین مهره‌ای استفاده کردند، که طی آن ۲۲ بیمار را تحت تزریق درون دیسکی PRP قرار دادند (۵۹). به طوری که ۹ بیمار طی یک مرحله تزریق، ۱۰ بیمار طی دو مرحله تزریق، ۲ بیمار طی سه مرحله تزریق و یک بیمار طی پنج مرحله تزریق PRP تحت درمان قرار گرفتند. این آزمایش بالینی، نتایج شش ماهه دلگرم کننده ای را نشان داد. به طوری که این آزمایش نشان داد، که تزریق داخل دیسکی PRP به عنوان یک درمان جهت کمردرد با منشا دیسکوژنیک می تواند در نظر گرفته شود. همچنین، استفاده از تزریق درون دیسکی PRP جهت بازسازی دیسک بین مهره‌ای تخریب شده، توسط Tuakli-wosornu و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (۶۰). آن ها مطالعه ای را بر روی ۴۷ بیمار مبتلا به تخریب دیسک بین مهره‌ای انجام دادند. آن ها مطالعه را به دو گروه بیماران تحت یکبار تزریق PRP اتولوگ و گروه کنترل تقسیم نمودند. در این مطالعه، بیماران با استفاده از شاخص میزان عملکرد (FRI)، مقیاس درجه بندی عددی جهت درد (NRS)، دامنه عملکرد فیزیکی ۳۶ آیتم فرم کوتاه بررسی سلامت (SF-36) و پرسشنامه نتیجه انجمن ستون فقرات آمریکای شمالی (NASS) بر اساس دو مولفه درد و عملکرد مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران به صورت تصادفی به دو گروه PRP و کنترل طبقه بندی شدند و اطلاعات در بازه های زمانی یک هفته، چهار هفته، هشت هفته و شش ماهه و یک ساله جمع آوری شدند.

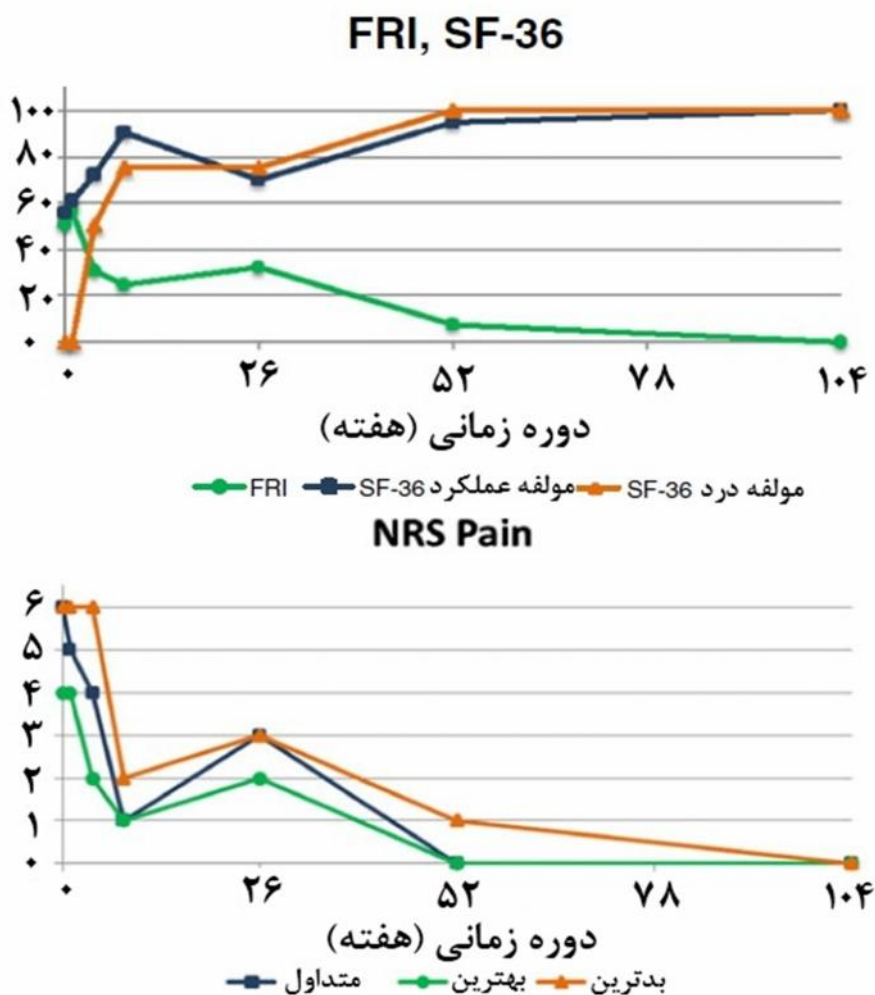
بایستی توجه داشت که در این مطالعه به بیماران که طی هشت هفته بهبود نیافته بودند پیشنهاد شد که درمان PRP بیشتری را انجام دهند. در هفته هشتم، محققان دریافتند که بهبود

بود، انجام داده است (۶۲). در این مطالعه موردی که با موفقیت به پایان رسید، بیمار خانمی با سن پنجاه و چهار سال بود که از کمردرد مزمن و شدید رنج می‌برد که منشأ درد آن، برآمدگی دیسک Foraminal سمت چپ و درد رادیکولار L4 چپ بود. بیمار گزارش کرده بود که آزمایشات بالینی با استفاده از داروهای ضدالتهاب، درمان‌های فیزیکی و حتی چندین روش پیشگیرانه را خارج از کلینیک انجام داده است. پس از گذشت دو سال از شکست در این درمان‌ها و ادامه یافتن درد، او تحت دیسکوگرام قرار گرفته است، که نشان داده که دیسک L3-L4 آن نرمال بوده اما L4-L5 آن که باعث ایجاد درد شده، شواهدی از شکاف حلقوی را مشخص کرده است. تصاویرمقطع نگاری رایانه‌ای

روش موثر و ایمن برای جلوگیری از ابتلا به کمردرد و ناتوانی، با رضایت مندی و موفقیت طولانی مدت، برای ۷۱,۲ درصد از بیماران در این مطالعه بود. با استفاده از تزریق کمری PLPR، می‌توان از ابتلا به سندرم شکست کمر جلوگیری نمود.

۳- یک مطالعه بالینی موردی

گرگوری لوتز (Gregory Lutz) و تیم ایشان، در بیمارستانی که جهت جراحی‌های ویژه در نیویورک راه اندازی شده بود، در شش سال گذشته بر روی بیماری تخریب دیسک بین مهره‌ای با استفاده از PRP مطالعه کرده و یک مطالعه بالینی موردی را که در آن بیمار نتیجه مطلوبی را با درمان PRP با هدف بهبودی بیماری اش گرفته



تصویر ۳- نمودار مولفه های درد (NRS best pain)، عملکرد (FRI) و SF-36 (هم درد و هم عملکرد) بیمار درمان شده با PRP پس از گذشت ۱۸ ماه از تزریق PRP (۶۰)

فرآیند تخریب دیسک بین مهره‌ای از طریق روش‌های درمانی در مراحل اولیه می‌باشد. با این حال، به طور مشابه با غضروف مفصلی و منیسک، دیسک بین مهره‌ای نیز یک اندام بدون توانایی لازم جهت بازسازی در نظر گرفته می‌شود. در این زمینه، چندین رویکرد ترمیمی، جهت ایجاد روشی متداول و با عملکرد، به منظور بازسازی دیسک بین مهره‌ای آسیب دیده در حال انجام می‌باشد که شامل انتقال فاکتور رشد، ژن درمانی، مهندسی بافت و درمان مبتنی بر سلول می‌باشد (۷۴-۷۱). یکی از روش‌های فرض شده جهت آغاز ترمیم دیسک بین مهره‌ای، انتقال و تحویل پلاسمای غنی از پلاکت و دیگر فاکتورهای رشد موجود در آن، به ناحیه بین مهره‌ای است. پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) قسمتی از پلاسماست که شامل مقدار زیادی پلاکت است و همچنین دارای طیف گسترده‌ای از غلظت‌های پلاکتی و گرانول‌های پلاکتی حاوی بسیاری از عوامل رشد می‌باشد که از پلاکت‌ها پس از فعال‌سازی آن‌ها توسط کلسیم یا ترومبین‌ها سازی می‌شود و شامل PDGF و VEGF، TGF-1 و TGF-2 و IGF می‌باشد (۲۴ و ۲۵). این تنوع، در نتیجه این حقیقت است که در اکثر بیماران، غلظت پلاکت در کل خون در محدوده بین ۱۵۰۰۰۰ تا ۳۵۰۰۰۰ میکرولیتر قرار دارد. هنگامی که PRP خون تغلیظ می‌یابد، غلظت آن تا بیش از ۱۰۰۰۰۰۰ پلاکت/میکرومتر افزایش پیدا می‌کند (۷۷-۷۵). علاوه بر این، PRP می‌تواند حاوی مقادیر متغیری از سلول‌های دیگر همچون سلول‌های قرمز خون، سلول‌های سفید خون و همچنین مقدار متغیری از پلازما باشد (۷۸).

مطالعات پیش‌بالینی و آزمایشات بالینی خلاصه شده در این مقاله، از روش تزریق داخل دیسکی PRP، به عنوان یک روش احتمالاً ایمن و درمانی جهت بهبود بیماری‌های مرتبط با دیسک بین مهره‌ای آسیب دیده حمایت کرده و همچنین به عنوان یک گزینه درمانی مقرون به صرفه و با ثبات از آن یاد می‌کند. این روش‌ها، قابلیت انجام به صورت سرپایی در مدت زمان سی دقیقه و با حدود یک دهم هزینه موردنیاز جهت انجام روش

(CT Scan) پس از دیسکوگرافی، یک annular tear درجه چهار را نشان داد. مقدار یک و نیم سی سی PRP اتولوگ، در زمان دیسکوگرافی به بیماران تزریق شد و چهار هفته پس از عمل، گزارشی مبنی بر برطرف شدن تقریباً کامل درد انتشار یافت. در این زمان، بیمار مجدداً جهت درمان فیزیکی ثبت نام نموده و این درمان را همزمان با مطالعات کلینیکی انجام داد. در ۱۸ ماه پس از عمل، در هر دو مولفه درد و عملکرد، پیشرفت چشمگیری مشاهده گردید (تصویر ۳) (۶۲).

بحث و نتیجه‌گیری

خصوصیات مکانیکی یک دیسک بین مهره‌ای سالم به شدت به ویژگی‌های بافت‌شناسی آن وابسته است. این خصوصیات، عملکرد اساسی دیسک در متعادل ساختن فشار و بار وارد شده به ستون فقرات را، پوشش داده و باعث حفظ انعطاف‌پذیری چند محوری ستون فقرات می‌گردد. تخریب دیسک بین مهره‌ای، یک الگوی بافت‌شناسی است که به خوبی ایجاد می‌شود؛ به طوری که افزایش در فرآیندهای تخریب‌کننده سلول دیسک همچون فرآیندهای آپوپتوز سلولی یا نکروز سلولی به صورت فراوان در آن رخ می‌دهد (۶۳). توزیع و تولید مولکول‌های ماتریکس نیز، در پدیده تخریب دچار تغییراتی می‌شود. به طوری که، میزان گلیکوزآمینوگلیکان‌ها (GAG) در این پدیده، به دلیل تحریک شدن فرآیند دهیدراسیون سلول‌های هسته دیسک بین مهره‌ای کاهش می‌یابد (۶۴ و ۶۵). این تغییرات مولکولی، مسئول ظهور چندین الگوی بالینی، از جمله فتق دیسک و تخریب کامل دیسک می‌باشد. در حال حاضر، استاندارد طلایی در درمان تخریب دیسک بین مهره‌ای، عمل جراحی ادغام مهره‌ها است که با چندین تکنیک صورت می‌پذیرد (۶۸-۶۶)؛ اما این جراحی‌ها، عملکرد دیسک بین مهره‌ای را حفظ و بازیابی نمی‌کند. در مقابل، درمان پیشگیرانه، اساس درمان فیزیکی بوده و نمی‌تواند آبشار تخریبی را معکوس نماید (۶۹ و ۷۰). بنابراین، هدف پژوهش‌های در حال انجام، سرکوب نمودن

معنی که چگونه عمل نماییم تا بیماران مبتلا به بیماری تخریب دیسک، با مدیریت بهتری در آینده روبرو شوند. درمان‌های بیولوژیک همچون PRP، نه تنها امیدهایی را در درمان رایج‌ترین، پرهزینه‌ترین و ناتوان‌کننده‌ترین شرایط مواجهه شده توسط پزشکان و بیماران در زمینه بیماری‌های اسکلتی-عضلانی ایجاد نموده است، بلکه ممکن است راه حلی مقرون به صرفه و پایدار را، جهت مدیریت کمردرد توسط سیستم بهداشت و درمان پیشنهاد نماید. در این مطالعه مروری، ما تمامی مطالعات پیش‌بالینی و بالینی مرتبط به کاربرد PRP در جهت بازسازی دیسک بین مهره‌ای را مورد بررسی قرار دادیم. این مطالعه شامل ۷ آزمایش *In vitro* بود، که به بررسی پتانسیل ترمیمی PRP بر روی سلول‌های دیسک بین مهره‌ای می‌پرداخت (۵۳-۴۷). تمامی این مطالعات، تقریباً نتایج مشابهی را نشان داد و حاکی از موفقیت نسبی این روش در بازسازی دیسک تخریب شده بود. بی‌شک این نتایج، یک نشانه معتبر جهت استفاده کاربردی از PRP در شرایط *In vivo* خواهد بود. با این حال، هنگامی که تحلیل این نتایج به صورت انتقادی صورت می‌پذیرد، تفاوت‌های زیادی در روش‌های کار، از جمله در زمینه نمونه‌های مورد استفاده سلولی، روش تهیه PRP و روش‌های ارزیابی نتایج مشاهده می‌شود که باعث مشکل شدن ترسیم نتایج قطعی می‌گردد. همچنین، در این مقاله، به بررسی ۶ مطالعه در شرایط *In vivo* پرداخته شد (۴۰ و ۴۲ و ۵۷-۵۴). به‌طور مشابه با مطالعات *In vitro*، مطالعات *In vivo* نیز فاقد استاندارد و همگنی از لحاظ انجام کار بودند. یکی از معضلات دیگر در عدم نتیجه‌گیری قطعی در مطالعات *In vivo*، نتایج کوتاه مدت ارزیابی‌ها پس از تزریق بود؛ به‌طوری‌که طولانی‌ترین مدت پیگیری، ۸ هفته پس از تزریق بود. در دو مطالعه *In vivo*، جهت انتقال PRP، از حامل استفاده شد و این عامل دیگری است که آنالیز شواهد موجود را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵۴ و ۵۵). در زمان نگارش این مقاله، به چهار مطالعه بالینی با استفاده از PRP بر روی بیماران مبتلا به تخریب دیسک با هدف

اتصال ستون فقرات را دارند (۶۲). با این حال، تحقیقات بیشتری جهت روشن ساختن بسیاری از سوالات پاسخ نداده شده در مورد استفاده از این روش مورد نیاز است. درست همانند Cook و همکاران، که حضور فاکتورها از لحاظ پیش‌بینی احتمالات در مورد تعیین معیارهای نتیجه جراحی و کاندیدهای جراحی بهینه را توصیف کردند (۷۹)، تحقیقات بیشتر نیز جهت کشف ویژگی‌هایی که می‌تواند یک روش پیشگیرانه تزریق درون دیسکی PRP، به عنوان یک گزینه مطلوب‌تر در زمینه بیماری‌های دیسک محسوب گردد، مورد نیاز می‌باشد. اگر توانستیم الگوریتمی را طراحی کنیم که توانایی پیش‌بینی دقیق اینکه آیا این روش جراحی یا غیر جراحی بهترین سود را برای بیمار دارد (یا ندارد) را داشته باشد؛ پس از آن، نه تنها بیمار و پزشک نتایج رضایت‌بخشی را تجربه خواهند کرد، بلکه یک بار بزرگ اقتصادی نیز از دوش سیستم بهداشت و درمان کشور برداشته خواهد شد. Junger-Illien و همکاران پیشنهاد نمودند که ممکن است بتوان، یک نقشی را برای درمان‌های بازسازی‌کننده قابل تزریق، جهت تقویت درمان‌های مبتنی بر جراحی که در زمان پیگیری مورد استفاده قرار گیرد، متصور شد و به عنوان یک ابزار پیشگیرانه برخلاف تخریب‌های پس از جراحی برای بافت‌های دیسکی تخریب شده از آن استفاده نمود (۸۰). مطالعات انجام شده تا به امروز پیشنهاد می‌کند که تزریق درون دیسکی PRP نه تنها پتانسیل پر کردن این نقش را داراست؛ بلکه جهت جلوگیری از جراحی در بسیاری از بیماران کلینیکی در آینده، می‌بایستی بر روی تعیین کاندیدهای مناسب از لحاظ روش درمانی، غلظت بهینه PRP و اثرات تزریقات متعدد آن تمرکز نمود. همچنین سوالاتی در این باره مطرح است، از جمله اینکه آیا فیزیولوژی سلولی مسئول برای بازسازی دیسک بین مهره‌ای می‌تواند جهت بهینه کردن اثرات درمانی مورد هدف قرار گیرد و اینکه آیا هر نشانگر زیستی یا تغییرات تصویربرداری MRI وجود دارد که بتواند به عنوان یک شاخص پیش‌آگاه‌کننده باشد. ما معتقدیم که در شروع یک تغییر سطح نگرش قرار داریم؛ به این

منابع

1. Habibi Z, Maleki F, Meybodi AT, Mahdavi A, Saberi H. Lumbosacral sagittal alignment in association to intervertebral disc diseases. *Asian Spine J*; 2014. 8(6):813–819.
2. Roberts S, Evans H, Trivedi J, Menage J. Histology and pathology of the human intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Am*; 2006. 88(Suppl 2):10–14.
3. Shankar H, Scarlett JA, Abram SE. Anatomy and pathophysiology of intervertebral disc disease. *Tech Reg Anesth Pain Manag*; 2009. 13(2):67–75.
4. Neroni M, Gazzeri R, Conforti G, Visocchi M. State of art of recurrent lumbar disk herniation, interspinous and interlumbal fusions. *J Neurosurg Sci*; 2014. 58(2 Suppl 1):45–48.
5. Migacz K, Chłopek J, Morawska-Chochół A, Ambroziak M. Gradient composite materials for artificial intervertebral discs. *Acta Bioeng Biomech*; 2014. 16(3):3–12.
6. Wang SZ, Rui YF, Lu J, Wang C. Cell and molecular biology of intervertebral disc degeneration: current understanding and implications for potential therapeutic strategies. *Cell Prolif*; 2014. 47(5):381–390.
7. Sivan SS, Wachtel E, Roughley P. Structure, function, aging and turnover of aggrecan in the intervertebral disc. *Biochim Biophys Acta*; 2014. 1840(10):3181–3189.
8. Freemont AJ. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain. *Rheumatology (Oxford)*; 2009. 48(1):5–10.
9. Phillips KL, Jordan-Mahy N, Nicklin MJ, Le Maitre CL. Interleukin-1 receptor antagonist deficient mice provide insights into pathogenesis of human intervertebral disc degeneration. *Ann Rheum Dis*; 2013. 72(11):1860–1867.
10. Ellman MB, Kim JS, An HS, Chen D, KC R, An J, et al. Toll-like receptor adaptor signaling molecule MyD88 on intervertebral disk homeostasis: in vitro, ex vivo studies. *Gene*; 2012. 505(2):283–290.
11. Wang M, Tang D, Shu B, Wang B, Jin H, Hao S, et al. Conditional activation of b-catenin signaling in mice leads to severe defects in intervertebral disc tissue. *Arthritis Rheum*; 2012. 64(8):2611–2623.
12. Di Martino A, Vaccaro AR, Yung Lee J, Denaro V, Lim MR. Nucleus pulposus replacement: basic science and indications for clinical use. *Spine*; 2005. 30(16 Suppl):S16–S22.
13. Di Martino A, Merlini L, Faldini C. Autoimmunity in intervertebral disc herniation: from bench to bedside. *Expert Opin Ther Targets*; 2013. 17(12):1461–1470.
14. Hegewald AA, Ringe J, Sittinger M, Thome C. Regenerative treatment strategies in spinal surgery. *Front Biosci*; 2008. 13:1507–1525.
15. Sheykhhasan M, Nikbakht M, Ghiasi M. Stem

بازسازی و بهبود این بیماری به انجام رسیده بود (۶۱-۵۷). نتایج حاصل از این آزمایشات، بهبود مناسبی را در بیماران گزارش نمود. همچنین یک مطالعه بالینی موردی هم در آمریکا گزارش شد که نتیجه موفقیت آمیزی را گزارش کرد (۶۲). با این حال، قبل از اینکه PRP بتواند به صورت بالینی جهت درمان بیماری تخریب دیسک بین مهره‌های مورد استفاده قرار گیرد، می‌بایستی برخی از مشکلات رفع گردد (۳۱). یکی از این مشکلات، نامشخص بودن مکانیسم دقیق پاتولوژی فرآیند تخریب دیسک مهره‌ای می‌باشد (۳۱). مشکل دیگر این است که PRP تهیه شده توسط روش‌های مختلف ممکن است به درجات متفاوتی از تخریب پلاکتی منجر گردد که در نتیجه به تولید غلظت‌های متفاوتی از فاکتورهای رشد می‌انجامد (۳۱). علاوه بر این، هیچ استاندارد یکنواختی جهت تعیین تولید PRP پایدار وجود ندارد، در حالی که موضوع اطمینان از کیفیت PRP مسئله بسیار جدی جهت استفاده از آن به عنوان یک روش درمانی می‌باشد (۳۱). علاوه بر اینها، دوزهای بهینه فاکتورهای رشد مختلفی که وجود آن‌ها در PRP جهت انجام فرآیند بازسازی بافت الزامی است و برهم کنش‌هایی که بین این فاکتورهای رشد اتفاق می‌افتد به طور شفاف مشخص نشده است (۳۱). دیگر معضل موجود این مسئله است که کاربردهای بالینی PRP عمدتاً بر روی طب ترمیمی بافت فک و صورت و زیبایی تمرکز یافته‌اند، در حالی که اطلاعات بالینی مورد نیاز جهت استفاده درمانی از PRP هنوز هم مناسب نمی‌باشد (۳۱). در نتیجه، به مطالعات بالینی بیشتری در آینده جهت تایید اثرات درمانی PRP بر روی بیماری تخریب دیسک بین مهره‌ای نیاز می‌باشد.

هدف از این مقاله، معرفی و خلاصه‌بندی برخی از مهم‌ترین مطالعات انجام شده کنونی از لحاظ پیش‌بالینی و بالینی است که با استفاده از PRP در زمینه بیماری تخریب دیسک کمری انجام شده و به ترغیب، تهییج و راهنمایی تحقیقات آینده در زمینه طب ترمیمی ستون فقرات پرداخته شده است.

- platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*; 2003. 18:93-103.
27. Ghiasi M, Kalhor N, Tabatabaei Qomi R, Sheykhasan M. The effects of synthetic and natural scaffolds on viability and proliferation of adipose-derived stem cells. *FRONTIERS IN LIFE SCIENCE*; 2015. 8(4):1-12.
 28. Sheykhasan M, Tabatabaei Qomi R, Ghiasi M. Evaluation of repair potential of PRP on knee cartilage regeneration: a case study. 8th International Iranian Congress of Laboratory & Clinic; 2016. PBN-23.
 29. Ghiasi M, Tabatabaei Qomi R, Kalhor N, Fazaeli H, Mehdizadeh M, Sheyk Hasan M. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. *SMU Medical Journal*; 2014. 1(2): 261-273.
 30. Knezevic NN, Candido KD, Desai R, Kaye AD. Is Platelet-Rich Plasma a Future Therapy in Pain Management? *Med Clin North Am*; 2016 Jan. 100(1):199-217.
 31. Wang SZ, Rui YF, Tan Q, Wang C. Enhancing intervertebral disc repair and regeneration through biology: platelet-rich plasma as an alternative strategy. *Arthritis Res Ther*; 2013. 15(5):220.
 32. Mishra A, Tummala P, King A, Lee B, Kraus M, Tse V, et al. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Eng*; 2009. 15(3):431-5.
 33. Urban JP, Roberts S. Degeneration of the intervertebral disc. *Arthritis Res Ther*; 2003. 5(3):120-30.
 34. Johnstone B, Bayliss MT. The large proteoglycans of the human intervertebral disc. Changes in their biosynthesis and structure with age, topography, and pathology. *Spine (Phila Pa 1976)*; 1995 Mar 15. 20(6):674-84.
 35. Urban JP, Maroudas A, Bayliss MT, Dillon J. Swelling pressures of proteoglycans at the concentrations found in cartilaginous tissues. *Biorheology*; 1979. 16(6):447-64.
 36. Brass L. Understanding and evaluating platelet function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*; 2010. 2010:387-96.
 37. Knighton DR, Hunt TK, Thakral KK, Goodson WH 3rd. Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis. *Ann Surg*; 1982. 196(4):379-88.
 38. Leslie M. Beyond clotting: the power of platelets. *Science*; 2010. 328 (5978):562-4.
 39. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*; 2004. 62(4):489-96.
 40. Gullung GB, Woodall JW, Tucci MA, James J, Black DA, McGuire RA. Platelet-rich plasma effects on degenerative disc disease: analysis of histology and imaging in an animal model. *Evid Based Spine Care J*; 2011. 2(4):13-8.
 41. cell therapy for intervertebral disk regeneration. *Tehran University Medical Journal*; 2017. 74(11): 751-762.
 42. Sun Z, Luo B, Liu ZH, Samartzis D, Liu Z, Gao B, et al. Adipose-derived stromal cells protect intervertebral disc cells in compression: implications for stem cell regenerative disc therapy. *Int J Biol Sci*; 2015. 11(2):133-143.
 43. Gantenbein B, Calandriello E, Wuertz-Kozak K, Benneker LM, Keel MJ, Chan SC. Activation of intervertebral disc cells by co-culture with notochordal cells, conditioned medium and hypoxia. *BMC Musculoskelet Disord*; 2014. 15:422.
 44. Masuda K. Biological repair of the degenerated intervertebral disc by the injection of growth factors. *Eur Spine J*; 2008. 17(Suppl 4):441-451.
 45. Tolonen J, Grönblad M, Vanharanta H, Virri J, Guyer RD, Rytömaa T, et al. Growth factor expression in degenerated intervertebral disc tissue. An immunohistochemical analysis of transforming growth factor beta, fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor. *Eur Spine J*; 2006. 15(5):588-596.
 46. Thompson JP, Oegema TR Jr, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. *Spine*; 1991. 16(3):253-260.
 47. Risbud MV, Di Martino A, Guttapalli A, Seghatoleslami R, Denaro V, Vaccaro AR, et al. Toward an optimum system for intervertebral disc organ culture: TGF-beta 3 enhances nucleus pulposus and anulus fibrosus survival and function through modulation of TGF-beta-R expression and ERK signaling. *Spine; (Phila Pa 1976)*. 2006 Apr 15. 31(8):884-90.
 48. Chujo T, An HS, Akeda K, Miyamoto K, Muehleman C, Attawia M, et al. Effects of growth differentiation factor-5 on the intervertebral disc-in vitro bovine study and in vivo rabbit disc degeneration model study. *Spine*; 2006. 31(25):2909-2917.
 49. Tolonen J, Grönblad M, Vanharanta H, Virri J, Guyer RD, Rytömaa T, et al. Growth factor expression in degenerated intervertebral disc tissue. An immunohistochemical analysis of transforming growth factor beta, fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor. *Eur Spine J*; 2006. 15(5):588-596.
 50. Vadala` G, Russo F, Di Martino A, Denaro V. Intervertebral disc regeneration: from the degenerative cascade to molecular therapy and tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*; 2015. 9(6):679-690.
 51. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, et al. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials*; 2003. 24(18):3095-3100.
 52. Sa´nchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is

52. Chen WH, Lo WC, Lee JJ, Su CH, Lin CT, Liu HY, et al. Tissue-engineered intervertebral disc and chondrogenesis using human nucleus pulposus regulated through TGF-beta1 in platelet-rich plasma. *J Cell Physiol*; 2006. 3:744-754.
53. Kim HJ, Yeom JS, Koh YG, Yeo JE, Kang KT, Kang YM, et al. Anti-inflammatory effect of platelet-rich plasma on nucleus pulposus cells with response of TNF-a and IL-1. *J Orthop Res*; 2014. 32(4): 551-556.
54. Nagae M, Ikeda T, Mikami Y, Hase H, Ozawa H, Matsuda K, et al. Intervertebral disc regeneration using platelet-rich plasma and biodegradable gelatin hydrogel microspheres. *Tissue Eng*; 2007. 13(1):147-58.
55. Sawamura K, Ikeda T, Nagae M, Okamoto S, Mikami Y, Hase H, et al. Characterization of in vivo effects of platelet-rich plasma and biodegradable gelatin hydrogel microspheres on degenerated intervertebral discs. *Tissue Eng Part A*; 2009. 15(12):3719-27.
56. Hu X, Wang C, Rui Y. An experimental study on effect of autologous platelet-rich plasma on treatment of early intervertebral disc degeneration. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*; 2012. 26(8):977-83 (Article in Chinese).
57. Chen WH, Liu HY, Lo WC, Wu SC, Chi CH, Chang HY, et al. Intervertebral disc regeneration in an ex vivo culture system using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Biomaterials*; 2009. 30(29):5523-33.
58. Akeda K, Imanishi T, Ohishi K, Masuda K, Uchida A, Sakakibara T, et al. Intradiscal injection of autologous platelet-rich-plasma for the treatment of lumbar disc degeneration preliminary prospective clinical trial for discogenic low back pain patients. Poster No. 2194. ORS 2012 Annual Meeting.
59. Levi D, Horn S, Tyszko S, Levin J, Hecht-Leavitt C, Walko E. Intradiscal Platelet-Rich Plasma Injection for Chronic Discogenic Low Back Pain: Preliminary Results from a Prospective Trial. *Pain Med*; 2015. pii: pnv053.
60. Tuakli-Wosornu YA, Terry A, Boachie-Adjei K, Harrison JR, Gribbin CK, LaSalle EE, Nguyen JT, Solomon JL, Lutz GE. Lumbar Intradiscal Platelet-Rich Plasma (PRP) Injections: A Prospective, Double-Blind, Randomized Controlled Study. *PMR*; 2016. 8(1):1-10. quiz 10.
61. Hussein M, Hussein T. Effect of autologous platelet leukocyte rich plasma injections on atrophied lumbar multifidus muscle in low back pain patients with monosegmental degenerative disc disease. *SICOT J*; 2016. 2:12.
62. Monfett M, Harrison J, Boachie-Adjei K, Lutz G. Intradiscal platelet-rich plasma (PRP) injections for discogenic low back pain: an update. *Int Orthop*; 2016.
63. Johnson WE, Eisenstein SM, Roberts S. Cell cluster formation in degenerate lumbar
41. Obata S, Akeda K, Morimoto R, Asanuma Y, Kasai Y, Masuda K, et al. Intradiscal injection of autologous platelet-rich plasma-serum induces the restoration of disc height in the rabbit annular needle puncture model: 12 [abstract]. *Spine Aff Soc Meet Abstr*; 2010. 15.
42. Obata S, Akeda K, Imanishi T, Masuda K, Bae W, Morimoto R, et al. Effect of autologous platelet-rich plasma-releasate on intervertebral disc degeneration in the rabbit annular puncture model: a preclinical study. *Arthritis Res Ther*; 2012. 14(6):R241.
43. Kon E, Mandelbaum B, Buda R, Filardo G, Delcogliano M, Timoncini A, et al. Platelet-rich plasma intraarticular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis. *Arthroscopy*; 2011. 27(11):1490-1501.
44. Sa'nchez M, Guadilla J, Fiz N, Andia I. Ultrasound-guided platelet rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis of the hip. *Rheumatology (Oxford)*; 2012. 51(1):144.
45. Bernuzzi G, Petraglia F, Pedrini MF, De Filippo M, Pogliacomi F, Verdano MA, et al. Use of platelet rich plasma in the care of sports injuries: our experience with ultrasound-guided injection. *Blood Transfus*; 2014. 12 Suppl 1:s229-34.
46. Kepler CK, Anderson DG, Tannoury C, Ponnappan RK. Intervertebral disk degeneration and emerging biologic treatments. *J Am Acad Orthop Surg*; 2011. 19(9):543-53.
47. Akeda K, An HS, Pichika R, Attawia M, Thonar EJ, Lenz ME, et al. Platelet-rich plasma (PRP) stimulates the extracellular matrix metabolism of porcine nucleus pulposus and annulus fibrosus cells cultured in alginate beads. *Spine (Phila Pa 1976)*; 2006. 31(9):959-66.
48. Mietsch A, Neidlinger-Wilke C, Schrezenmeier H, Mauer UM, Friemert B, Wilke HJ, et al. Evaluation of platelet rich plasma and hydrostatic pressure regarding cell differentiation in nucleus pulposus tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*; 2013. 7(3):244-252.
49. Liu MC, Chen WH, Wu LC, Hsu WC, Lo WC, Yeh SD, et al. Establishment of a promising human nucleus pulposus cell line for intervertebral disc tissue engineering. *Tissue Eng Part C Methods*; 2014. 20(1):1-10.
50. Pirvu TN, Schroeder JE, Peroglio M, Verrier S, Kaplan L, Richards RG, et al. Platelet-rich plasma induces annulus fibrosus cell proliferation and matrix production. *Eur Spine J*; 2014. 23(4):745-753.
51. Bach FC, de Vries SA, Krouwels A, Creemers LB, Ito K, Meij BP, et al. The species-specific regenerative effects of notochordal cell-conditioned medium on chondrocyte-like cells derived from degenerated human intervertebral discs. *Eur Cell Mater*; 2015. 30:132-46; discussion 146-7.

76. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*;2004 Apr. 34(4):665-71.
77. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*;2001. 10(4):225-8.
78. Cheng J, Wang H, Zheng W, Li C, Wang J, Zhang Z, et al. Reoperation after lumbar disc surgery in two hundred and seven patients. *Int Orthop*;2013 Aug. 37(8):1511-7.
79. Cook CE, Arnold PM, Passias PG, Frempong-Boadu AK, Radcliff K, Isaacs R, et al. Predictors of pain and disability outcomes in one thousand, one hundred and eight patients who underwent lumbar discectomy surgery. *Int Orthop*;2015. 39(11):2143-51.
80. Illien-Jünger S, Lu Y, Purmessur D, Mayer JE, Walter BA, Roughley PJ, et al. Detrimental effects of discectomy on intervertebral disc biology can be decelerated by growth factor treatment during surgery: a large animal organ culture model. *Spine*;2014 Nov 1. 14(11):2724-32.
- Intervertebral discs is associated with increased disc cell proliferation. *Connect Tissue Res*;2001. 42(3):197-207.
64. Roberts S, Caterson B, Menage J, Evans EH, Jaffray DC, Eisenstein SM. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)*;2000. 25(23):3005-13.
65. Oegema TR Jr, Johnson SL, Aguiar DJ, Ogilvie JW. Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)*;2000. 25(21):2742-7.
66. Formica M, Berjano P, Cavagnaro L, Zanirato A, Piazzolla A, Formica C. Extreme lateral approach to the spine in degenerative and post traumatic lumbar diseases: selection process, results and complications. *Eur Spine J*;2014. 23 Suppl 6:684-92.
67. Allain J, Delecrin J, Beaurain J, Poignard A, Vila T, Flouzat-Lachaniette CH. Stand-alone ALIF with integrated intracorporeal anchoring plates in the treatment of degenerative lumbar disc disease: a prospective study on 65 cases. *Eur Spine J*;2014. 23(10):2136-43.
68. Høy K, Bünger C, Niederman B, Helmig P, Hansen ES, Li H, Andersen T. Transforaminal lumbar interbody fusion (TLIF) versus posterolateral instrumented fusion (PLF) in degenerative lumbar disorders: a randomized clinical trial with 2-year follow-up. *Eur Spine J*. 2013. 22(9):2022-9.
69. Cavagnaro L, Basso M, Alessio Mazzola M, Formica M. Lumbar traction in the management of low back pain: a survey of latest results. *J Nov Physiother*; 2014. 4:5.
70. Wegner I, Widyahening IS, van Tulder MW, Blomberg SE, de Vet HC, Brønfort G, et al. Traction for low-back pain with or without sciatica. *Cochrane Database Syst Rev*;2013. 8:CD003010.
71. Anderson DG, Albert TJ, Fraser JK, Risbud M, Wuisman P, Meisel HJ, et al. Cellular Therapy for disc degeneration. *Spine*; 2005. 30(17):S14-S19.
72. Alini M, Roughley PJ, Antoniou J, Stoll T, Aebi M. A biological approach to treating disc degeneration: not for today, but maybe for tomorrow. *Eur Spine J*;2002. 11 Suppl 2:S215-20.
73. Crevensten G, Walsh AJ, Ananthakrishnan D, Page P, Wahba GM, Lotz JC, et al. Intervertebral disc cell therapy for regeneration: mesenchymal stem cell implantation in rat intervertebral discs. *Ann Biomed Eng*;2004. 32(3):430-4.
74. Fontana G, See E, Pandit A. Current trends in biologics delivery to restore intervertebral disc anabolism. *Adv Drug Deliv Rev*;2015. 84:146-58.
75. Carter CA, Jolly DG, Worden CE Sr, Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol*;2003 Jun. 74(3):244-55.

The use of platelet-rich plasma in intervertebral disc regeneration: a review of preclinical studies and clinical experiments

Mohsen Sheykhasan, MSc, Laboratory of Stem Cell, The Academic Center for Education, Culture and Research, Qom, Iran. mohsen_sheikhhasan@yahoo.com

Saeed Mohammadi, PHD, Hematology, Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical sciences, Shariati Hospital, Tahran, Iran. saeedm_58@yahoo.com

Mohsen Nikbakht, PHD, Hematology, Oncology and Stem Cell Transplantation Research Center, Tehran University of Medical sciences, Shariati Hospital, Tahran, Iran. mohsni2003@yahoo.com

***Mahdieh Ghiasi**, Department of Pharmacology, Razi Institute for Drug Research, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Avay Mahd Cell Iranian Company, Health Technology Development Center of Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran (*Corresponding author). mahdieh.ghiasi@yahoo.com

Abstract

Intervertebral disc degeneration (IDD) is a prevalent disease that usually starts from the third decade of life and it is considered as one of the reasons contributing to social and economic problems. The results of several studies have shown that platelet-rich plasma (PRP) has the ability to stimulate cell growth and proliferation of extracellular matrix. However, studies for IDD have so far mostly been restricted. So, further studies are required to clarify the role of PRP on the prevention and treatment of the IDD disease. The purpose of this review article was to summarize and analyze the current preclinical studies and clinical evidence on using platelet-rich plasma in the IDD treatment.

Literature search was performed through various combinations of the following keywords: Intervertebral Disc Degeneration, Platelet Rich Plasma, PRP, Intervertebral disc regeneration. Papers included in our review cover the period between 2006 and 2016. At the end of the review process, articles related to searches have been evaluated in 2 separate studies as "In vitro" and "In vivo" condition. In this study, several clinical studies and a clinical case study were also evaluated. All the included studies led to positive preclinical and clinical results.

The results have shown a positive impact on the use of PRP for the treatment of disc degeneration but it is not possible to draw definitive evidence about the use of PRP in IVD regeneration. In this field, further studies should be done in the future.

Keywords: intervertebral disc regeneration, Platelet rich plasma, Intervertebral disc regeneration